

导数技术在植物叶片荧光研究中的应用

李耀群* 黄贤智 许金钩 陈国珍

(厦门大学化学系, 厦门, 361005)

摘要 本文首次采用导数技术于植物叶片的活体叶绿素荧光性质研究, 探讨了其生物学意义。该方法降低了不同叶绿素存在形式光谱干扰程度, 提高了谱带分辨率。衰老期植物叶片的导数荧光光谱和常规荧光光谱相比, 对叶衰老的敏感程度增加, 导数技术的应用便于植物状态的评估。

关键词 活体叶绿素, 荧光, 导数技术。

1 引言

导数技术应用于荧光分析, 在解决荧光测定中的背景干扰和谱带重迭问题上收到了良好的效果, 被证明是一种提高荧光分析选择性的有效手段^[1,2]。本文旨在采用导数技术这样一种分析手段, 解决生物复杂体系的某些问题, 为生物研究提供有用技术, 扩大分析手段的用途。直接植物叶片活体叶绿素荧光性质研究具有重要意义, 有助于对光合作用原初反应机制的了解^[3~5]。导数技术的应用尚未见报道。我们开展了这方面的工作。

2 实验部分

2.1 材料与仪器

材料为龙眼和其他高等植物成熟及不同衰老程度的叶片。仪器为日立850型荧光分光计。激发和发射单色仪的带通均为5nm。扫描速度为200nm/min。

2.2 方法

叶片裁剪成适合荧光仪上样品架大小的长方形片, 以所需的方式插入样品架中。叶片的插放方式按需要可为透射式或反射式。置一切割去500nm以下波长光的长通滤光片于发射单色仪和样品之间。以激发波长440nm, 扫描荧光光谱和二阶导数荧光光谱。

3 结果与讨论

3.1 导数技术对光谱的改善及生物学意义

图1为成熟绿龙眼叶的反射式荧光光谱和导数光谱, 叶面对光。荧光光谱中738nm荧光带主要由光系统的叶绿素a发出, 而687nm荧光带来自于光系统II的叶绿素a。叶绿素a荧光是光合作用的无损探针^[3~5]。但是叶片的活体叶绿素荧光谱带互相交迭, 如果光系统II的荧光增加了, 会使光系统I的表现荧光增强, 而实际光系统I荧光可能并不增加。因而直接

本文系国家自然科学基金资助课题。

取荧光光谱的荧光带强弱变化情况来研究二个光系统的激发能分配情况或低温,水分等胁迫因素对光系统的影响,上述谱带干扰问题就可能对分析结果产生直接影响。经采用二阶导数技术后,谱带就能较好分辨开。二阶导数中的687nm负峰及673nm正峰来自光系统Ⅱ的荧光发射,而742nm负峰来自光系统Ⅰ的荧光发射。

叶片的反射荧光光谱受重吸收影响较小,但散射干扰大,仪器特性的作用突出。透射荧光光谱(图2)由于短波区发生重吸收,短波荧光大为削弱,系统Ⅱ荧光带的峰呈现在700nm左右的位置,几乎淹没于光系统Ⅰ的荧光峰之下,致使两系统的荧光变化比较发生困难,由图2可见,导数光谱使谱带明显特征化,将短波荧光带从光系统Ⅰ的大荧光峰中分辨出来。

利用导数荧光峰研究不同存在形式的叶绿素荧光变化,有利于准确探知各种因素对光系统的影响,促进光合作用的光物理和光化学过程的了解。

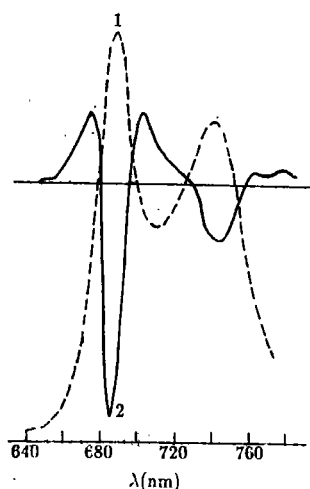


图1 龙眼成熟绿叶的荧光光谱(----)和二阶导数光谱(——),反射式。

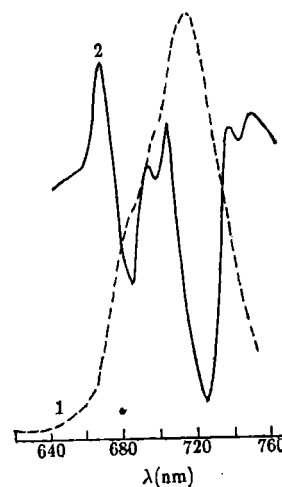


图2 龙眼成熟绿叶的荧光光谱(----)和二阶导数光谱(——),透射式。

3.2 导数技术应用于植物绿叶衰老时荧光变化的研究

植物体衰老会伴随着叶绿素含量下降,这种色素变化情况尤其在衰老初期是难以用活体叶绿素的绝对荧光变化来衡量的^[3],但随叶片衰老,荧光光谱形状发生有规律的变化,即 F_{II}/F_I (F_{II} 和 F_I 分别代表来自光系统Ⅱ、Ⅰ的荧光)比率随衰老程度加重而上升。用龙眼叶及其它多种高等植物叶片试验,均证明这种规律性变化。导数技术的应用使其规律性更加明显化。

用三种龙眼叶片(成熟绿叶、开始衰老带黄斑绿叶、黄化程度更大的叶子)进行荧光光谱和二阶导数光谱比较。结果如图2,3和4。

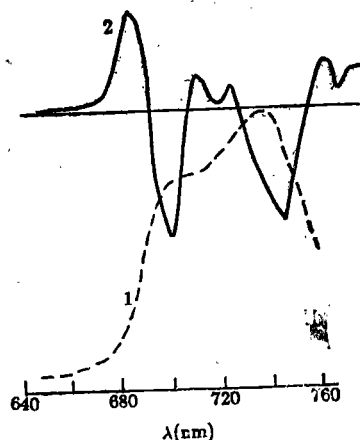


图3 龙眼带黄斑绿叶的荧光光谱(----)和二阶导数光谱(——),透射式。

荧光光谱的光系统 I、II 荧光带重叠较大, 用这样的荧光光谱研究谱形变化规律与叶衰老关系, 存在明显的谱带互相干扰, 难以分辨的弊病, F_I/F_I 比率变化虽然是有规律的, 但程度较小, 而采用导数技术后, 谱带明显分开,

表 1 不同衰老程度的龙眼叶片 F_I/F_I 比率变化比较

	成熟绿叶	带黄斑绿叶	较黄叶
荧光光谱	0.60	0.78	0.86
二阶导数光谱	0.43	1.0	1.48

导数光谱形状呈显著规律性变化, F_I/F_I (F_I , F_I 强度大小分别取自导数光谱的两负峰) 比率变化程度明显加大(表 1)。结果表明导数光谱对叶衰老的敏感程度增加, 用导数光谱的谱形变化来考察叶衰老情况比用常规的荧光光谱有利。导数技术的应用起了信号放大作用, 方便植物状态的评估。

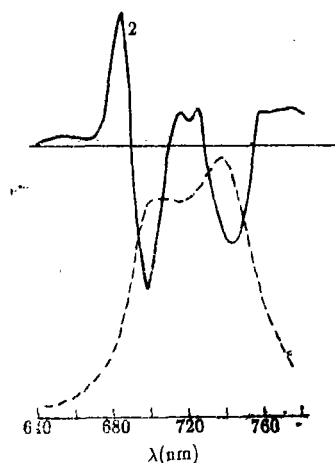


图 4 龙眼较黄叶的荧光光谱 (-----) 和二阶导数光谱 (——), 透射式。

4 参 考 文 献

- (Ed.) Schulman S G. "Molecular Luminescence Spectroscopy Methods and Applications" Part 1, John Wiley & sons, 1985, p 256.
- 黄贤智, 许金钩, 蔡 挺. 分析化学, 1987, 15, 293
- (Ed.) Hipkins M F, Baker N R. "Photosynthesis Energy Transduction Practical Approach", Elsevier Science Publishers, 1987, Chapter 4.
- Bjorkman O, Demming B. *Planta*, 1987, 170, 489
- Lichtenthaler H K. *J. Plant Physiol.*, 1987, 131, 101

(收稿日期: 1991年5月3日; 修回日期: 1991年8月26日)

Derivative Technique for the Study of Fluorescence Characteristics in Plant Leaves

Li Yaoqun*, Huang Xianzhi, Xu Jingou, Chen Guozhen
(Department of Chemistry, Xiamen University, Xiamen 361005)

Abstract The derivative technique has been used to investigate the fluorescence characteristics of chlorophyll *in vivo* among leaves of higher plants and its significance of biology has been discussed. The method shows a reduction in the spectral interference and an increase in spectral resolution of chlorophyll forms. The derivative fluorescence spectra of plant leaves are more sensitive to the senescence of leaves than the direct fluorescence spectra. The application of derivative technique facilitates the evaluation of plant stages.

Keywords Chlorophyll *in vivo*, Fluorescence, Derivative technique.

(Received May 3, 1991; Revised August 26, 1991)